УДК 619:579:636.59

Шмидт Г.О., Плешакова В.И.
(Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина)

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА ПЕРЕПЕЛОВ В НОРМЕ И ПРИ ДИСБАКТЕРИОЗЕ

Ключевые слова: биологические свойства, патогенность, микрофлора, дисбактериоз, перепела

Микрофлора играет важную роль в поддержании нормального физиологического состояния птицы. Процесс формирования нормофлоры у птенцов начинается с суточного возраста, при этом наряду с нормальной микрофлорой могут обнаруживаться и условно-патогенные микроорганизмы в случае, если ими обсеменен комбикорм, вода или, они находятся в воздухе инкубатория [1,2].

Микроэкологические изменения в пищеварительном тракте птенцов приводят к возникновению диареи, гастроэнтерита, энтероколита, клоацита и токсико-септических инфекций, что нарушает переваривание и усвоение питательных веществ. Повышается pH содержимого кишечника, что активирует адгезивные свойства эшерихий и других энтеропатогенных бактерий, а также гемолитическую и лецитиназную активность стафилококков. Сдвиги, происходящие в углеводном, белковом, липидном, витаминном обмене замедляют полноценный рост и развитие организма. Возникают дисфункции иммунной системы, что повышает восприимчивость птицы к инфекционным болезням[3-5].

Исходя из вышеизложенного целью наших исследований явилось изучение биологических свойств микроорганизмов, выделенных из кишечника перепелов в норме и при дисбактериозе.

Для проведения эксперимента было сформировано две группы перепелят 6-7 суточного возраста по принципу аналогов: шесть клинически здоровых и шесть - с признаками дисбактериоза. Кормление и содержание однотипное.

Определение качественного состава микрофлоры проводили посевом на дифференциально-диагностические и селективные питательные среды. Для выделения энтеробактерий использовали среды Эндо, Плоскирева, энтерококков – энтерококкагар. Выделение грибов и дрожжей проводили на среде Сабуро, стафилококков – посевом на элективный солевой агар, протея – на скошенный мясо-пептонный агар по методу Щукевича, сальмонелл – в селенитовый бульон с последующим пересевом на висмут-сульфит агар. Посевы культивировали при 37^0С в течение 24-48 часов.

Для определения родовой и видовой принадлежности выделенных культур изучали их биохимическую активность: способность разлагать глюкозу, лактозу, сахарозу, маннит, инозит, мальтозу, фруктозу, сорбитол, мочевину, фенилаланин, цитратные соли на среде Симмонса, каталазную активность, образовывать сероводород, наличие оксидоредуктазы. Подвижность культур определяли уколом в среду SIM-агар. Гемолитическую активность исследовали при посеве на кровяной агар, для приготовления которого использовали дефибринированную кровь барана (5%). Наличие коагулазы и фибринолизина изучали с помощью кроличьей плазмы. Идентификацию проводили согласно определителю бактерий Берджи (1997г.).

Патогенность культур, выделенных от больных перепелят, изучали внутрибрюшинным заражением белых мышей (n=40) взвесью суточной культуры микроорганизмов на 0,9% стерильном растворе натрия хлорида в дозе $0,5x10^9$ и $1x10^9$ м.т./мл объемом 1мл. Определение $LD_{50/мл}$ проводили по методу Рида-Менча в модификации Троицкого В.Л. путем вычисления кумулятивной выживаемости и смертности белых мышей (1950г.).

Убой птицы и мышей проводили согласно Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (1986г.).

От клинически здоровых перепелят были выделены следующие культуры микроорганизмов: Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Candida spp., Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus aureus.

E. coli, E. faecalis, E. faecium, C. albicans,

S. saprophyticus выделяли в 100% случаев. Все выделенные культуры E. coli разлагали с образованием кислоты и газа глюкозу, лактозу, маннит, мальтозу, не разлагали инозит, мочевину, цитратные соли, не образовывали сероводород и гемолиз на кровяном агаре. Были подвижны, каталазоположительными и оксидазоотрицательными. В 16,7% не разлагали сахарозу с образованием кислоты и газа.

Культуры E. faecalis ферментировали лактозу, сахарозу, сорбитол с образованием кислоты без газа. Две из шести выделенных культур образовывали зону β-гемолиза на кровяном агаре. E. faecium разлагали с образованием кислоты без газа сахарозу, лактозу, маннитол, не ферментировали ксилозу, рафинозу, сорбитол и не образовывали гемолиза на кровяном агаре.

Дрожжеподобные грибы рода Candida ферментировали с образование кислоты без газа лактозу, сахарозу, глюкозу, рафинозу и фруктозу. Не ферментировали маннит, сорбит, инозит, ксилозу и цитратные соли на среде Симмонса. Не проявляли гемолитической и уреазной активности.

Выделенные культуры S. saprophyticus ферментировали с образованием кислоты сахарозу, мальтозу, фруктозу, мочевину, были оксидазоотрицательны, не образовывали зоны гемолиза и не проявляли коагулазной активности. Пять из шести выделенных культур ферментировали лактозу и маннитол. S.aureus был выделен в трех пробах из шести. Культуры ферментировали с образованием кислоты без газа сахарозу, мальтозу, лактозу, фруктозу, маннитол. Разлагали мочевину и образовывали зону β-гемолиза на кровяном агаре, не обладали коагулазной активностью.

От перепелят с клиническими признаками дисбактериоза были выделены: E. coli, E. faecalis, E. faecium, Candida albicans, S. saprophyticus, S.aureus, Proteus vulgaris, Salmonella typhimurium.

Культуры E. coli, E. faecalis, E. faecium, C. albicans, S. saprophyticus были выделены из всех взятых проб и обладали сходной биохимической активностью с аналогичными культурами, выделенными от здоровых перепелят. Однако E. coli в 66,7% образовывали зону β-гемолиза на кровяном агаре, E. faecalis в 66,7% также образовывали зону β-гемолиза, а E. faecium в 16,7% случае образовывал на КА зону α-гемолиза.

S.aureus был выделен во всех шести пробах, 83,3% из которых образовывали зону β-гемолиза на кровяном агаре, а 33,3% обладали также коагулазной и фибринолитической активностью. Принадлежность выделенных бактерий к роду Salmonella проводили в лаборатории с О-комплексными и Н-моносыворотками в РА.

В группе мышей, зараженных культурой гемолитической E. coli в дозе $0,5x10^9$ м.т./мл, через шесть дней погибло одно животное (25%), а при заражении $1x10^9$ м.т./мл – четыре в течение трех дней. При патологоанатомическом вскрытии выявляли кровоизлияния и отек подкожной клетчатки, увеличение и застойную гиперемию печени, абсцессы в печени и почках, острое расширение сердца, дистрофия миокарда, катаральный гастрит, отек брыжейки, серозный лимфонодулит брыжеечных лимфоузлов, катарально-геморрагический энтероколит. При посеве из печени, почки, селезенки и брыжеечных лимфоузлов была выделена культура E. coli.

Все мыши, зараженные P. vulgaris в дозе $1x10^9$ м.т./мл, погибли в течение двух суток. При заражении той же культурой в дозе $0,5x10^9$ м.т./мл регистрировали гибель двух животных в течение 7 дней. При патологоанатомическом вскрытии обнаруживали отек и гиперемию подкожной клетчатки, увеличение селезенки и печени, застойную гиперемию печени и почек, абсцессы в печени, инъекцию сосудов тонкого кишечника и брыжейки, вздутие кишечника. При посеве из паренхиматозных органов и брыжеечных лимфатических узлов была выделена культура P. vulgaris.

При заражении мышей культурой E. faecalis в дозе $0,5x10^9$ м.т./мл через одиннадцать дней погибло два животных, а при заражении $1x10^9$ м.т./мл через пять дней погибло три животных. При вскрытии наблюдали острое расширение сердца, вздутие желудка и кишечника, катарально-геморрагический энтерит, застойная гиперемия и дистрофия почек, застойная гиперемия, некротические очаги в печени. Посевом из печени, почки, селезенки и брыжеечных лимфоузлов была выделена культура E. faecalis.

В группе животных, зараженных культурой E. faecium в дозе $0,5x10^9$ м.т./мл гибели мышей не регистрировали, а в дозе $1x10^9$ м.т./мл – пала одна мышь через восемь дней. Остальные животные были убиты по истечении 30 дней с момента заражения. При патологоанатомическом вскрытии обнаружили вздутие желудка и кишечника, катаральный энтерит, дистро-

фию, увеличение и некротические очаги в печени. При посеве из паренхиматозных органов выделили исходную культуру E. faecium.

Заражение мышей культурой Candida albicans в дозе $0,5x10^9$ м.т./мл через восемь дней привело к гибели двух животных, а в дозе 1x109 м.т./мл – три мыши через пять дней. При вскрытии диагностировали острую застойную гиперемию почек, дистрофию и застойную гиперемию печени, спленит, катаральный энтерит, серозный лимфонодулит. Посевом из печени, почки, селезенки и брыжеечных лимфоузлов была выделена культура Candida albicans.

По результатам проведенных исследований минимальные значения LD_{50} имели культуры P. vulgaris 0,5x109, E. faecalis $0,625x10^9$, Candida albicans $0,625x10^9$, E. coli $0,75x10^9$ и E. faecium $2x10^9$ м.т./мл.

Выводы. Проведенные исследования свидетельствуют о повышении патогенных свойств сразу нескольких сочленов микробиоценоза толстого кишечника перепелят на фоне дисбактериоза. При этом наряду наибольшей вирулентностью среди условно-патогенных микроорганизмов обладали культуры эшерихий, протея, E. faecalis, S.aureus и Candida albicans, а среди патогенных – сальмонеллы.

Резюме: Основными представителями условно-патогенной микрофлоры толстого кишечника у перепелят раннего возраста являются эшерихии, энтерококки, дрожжеподобные грибы, стафилококки. При дисбактериозе, помимо перечисленных выше, появляются также бактерии родов Salmonella и Proteus. В статье приводятся данные по биохимической активности различных представителей микрофлоры толстого кишечника. У здоровых перепелят и птенцов с признаками дисбактериоза значительного изменения ферментативной активности у схожих видов микроорганизмов не отмечено, однако регистрировали повышение вирулентности культур, изолированных от перепелов с нарушениями функции пищеварения, при постановке биопробы на белых мышах.

SUMMARY

The main representatives of pathogenic microflora in the colon of young quail are escherichia, enterococci, fungi candida and staphylococci. At dysbacteriosis except those listed earlier species of microorganisms, there are also Salmonella and Proteus. The article presents the characteristics of different biochemical activities of representatives of the microflora of the colon. In healthy quail and chicks with dysbiosis major change in enzyme activity similar types of microorganisms were observed. Recorded increased pathogenic properties of cultures isolated from quail with disorders of the digestive system, when setting bioassays at white mice.

Keywords: biological properties, pathogenicity, microflora, dysbacteriosis, quail.

Литература

1. Гулюшин, С. Значение пребиотиков в регуляции кишечной микрофлоры./ С. Гулюшин, Н. Садовникова, И. Рябчик// Комбикорма. - №2. – 2009. – С.78-79.

2. Лапинскайте Р., Бабонас Й. Эффективность применения симбионтного эу-биотика STF.//Ветеринария. – 2003. - №3. – С.22-26.

3. Петров, Ю.Ф. Микрофлора кишечника у кур в норме и при гельминтозах / Ю.Ф. Петров, А.Ю. Гудкова, З.Р. Мухаммедов и др.// Ветеринарный врач. – 2008. - №3. – с.38-40.

4. Иванова А.Б. Изменение качественного и количественного состава микро-флоры кишечника у цыплят-бройлеров при применении пробиотиков/ А.Б. Иванова//Сиб. вестник с/х науки. – 2006. - №4. – С.62-66.

5.Оркин В., Тарараева В., Кочнев Ю. Влияние подкислителей на микрофлору / В. Оркин , В. Тарараева, Ю. Кочнев// Птицеводство. – 2006. - №8. – С.29-31.

6. Кощаев А.Г., Плутахин Г.А., Мачнева Н.Л., Фисенко Г.В., Пятиконов И.В., Петенко А.И. Эффективность применения биотехнологических функциональ-ных добавок при выращивании перепелов. – Краснодар. – Ветеринария Кубани, № 4, 2011. – с. 23-25.

Контактная информации об авторах для переписки

Плешакова В.И., доктор ветеринарных наук, профессор, зав. кафедрой ветеринарной микробиологии, вирусологии и иммунологии ОмГАУ им. П.А. Столыпина.

Шмидт Галина Олеговна, аспирантка кафедры ветеринарной микробиологии, вирусологии и иммунологии Института ветеринарной медицины и биотехнологии Омского государственного аграрного университета им. П.А. Столыпина. г. Омск, ул. Октябрьская, 92. Индекс: 644122, тел. (3812)25-05-19. e-mail: galya-shmidt@mail.ru